

## The protective effects of *Tanacetum parthenium* extract on CCl<sub>4</sub>-induced myocardium injury in rats

Mazani M., PhD<sup>1</sup>, Mahmoodzadeh Y., MSc<sup>2</sup>, Rezagholizadeh L., PhD<sup>3</sup>

1. Associated Professor, Department of Biochemistry, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran.

2. Department of Biochemistry, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran.

3. Assistant Professor, Department of Biochemistry, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran, (Corresponding author), Tel: +98-45-33514357, reza34055@gmail.com

### ABSTRACT

**Background and Aim:** The aim of this study was to investigate the protective effects of *Tanacetum parthenium* extract (TPE) on lipid peroxidation and acute heart injury induced by carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) in rats.

**Materials and Methods:** In an experimental study, 30 male Wistar rats were divided into 5 groups (n=6). Two of the groups were normal and damage control groups, other 3 groups were damage groups treated with 40, 80 and 120 mg / kg of TPE for 14 days before being damaged by CCl<sub>4</sub>. At the end of the study we measured the activity of creatine kinase (CK-MB) isoenzyme and lactate dehydrogenase (LDH), total cholesterol (TC), HDL-C and LDL-C in serum, as well as the activity of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GP<sub>X</sub>), and arylesterase (ARE) and malondialdehyde (MDA) concentration, as lipid peroxidation index, in myocardial homogenates.

**Results:** The results of this study showed that treatment with carbon tetrachloride significantly increased the levels of CK-MB, LDH, TC, LDL-C and MDA and decreased ARE, HDL-C, SOD and GP<sub>X</sub> (P <0.001) in a dose dependent manner.

**Conclusion:** The present study demonstrated that TPE can be considered as a substance with various potential effects such as antioxidant activity and cardioprotective effects.

**Key words:** *Tanacetum parthenium*, Carbon tetrachloride, Myocardium, Lipid peroxidation, Antioxidant.

**Received:** Sep 20, 2017    **Accepted:** Jan 30, 2018

## بررسی اثرات محافظتی عصاره‌ی بابونه‌ی گاوی بر آسیب قلبی القاء شده توسط تتراکلریدکربن در موش صحرایی

محمد مازنی<sup>۱</sup>، یاور محمودزاده<sup>۲</sup>، لطف‌اله رضاقلی‌زاده<sup>۳</sup>

۱. دانشیار گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

۳. استادیار گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران (مولف مسوول)، تلفن ثابت: ۰۴۵۳۳۵۱۴۳۵۷، reza34055@gmail.com

### چکیده

**زمینه و هدف:** این مطالعه با هدف بررسی اثرات محافظتی عصاره‌ی گیاه بابونه‌ی گاوی (TPE) بر جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب حاد ایجاد شده توسط تتراکلریدکربن ( $CCl_4$ ) در میوکارد قلب موش صحرایی انجام گرفت.

**روش بررسی:** در یک مطالعه تجربی، ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. گروه‌ها شامل شاهد سالم، شاهد آسیب و ۳ گروه آسیب که به مدت ۱۴ روز قبل از ایجاد آسیب با  $CCl_4$ ، به ترتیب با دوزهای ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم TPE تیمار گردیدند. در پایان مطالعه، فعالیت آنزیم‌های قلبی کراتین کیناز (CK-MB) و لاکتات دهیدروژناز (LDH)، مقادیر کلسترول تام (TC)، لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL-C) و لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL-C) در سرم، بعلاوه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوکاتایون پراکسیداز ( $GP_X$ ) و آریل استراز (ARE) و غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در هموژنات بافت میوکارد قلب مورد سنجش قرار گرفت. سپس نتایج مورد تحلیل و آنالیز آماری قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تزریق تتراکلریدکربن موجب افزایش معنی‌دار LDL-C، TC، LDH، CK-MB و C و کاهش MDA و  $GP_X$ ، HDL-C، ARE، SOD می‌شود ( $P < 0.001$ ). تزریق عصاره باعث تغییرات این فاکتورها به صورت وابسته به دوز می‌گردد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره بابونه گاوی می‌تواند بعنوان ماده‌ای با اثرات مختلف از جمله فعالیت آنتی-اکسیدانی و اثرات محافظت‌کننده قلبی در بدن مطرح باشد.

**کلمات کلیدی:** بابونه‌ی گاوی، تتراکلریدکربن، میوکارد قلب، پراکسیداسیون لیپیدی، آنتی‌اکسیدان

وصول مقاله: ۹۶/۶/۲۹ اصلاحیه نهایی: ۹۶/۱۰/۹ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۰

## مقدمه

بیماری قلبی و عروقی یکی از مهمترین علل مرگ و میر در جهان شناخته شده است. اگرچه بیماری قلبی و عروقی به هر نوع مشکل مربوط به قلب یا رگ‌های خونی اطلاق می‌شود، اما این اصطلاح غالباً برای بیان آسیب ناشی از آترواسکلروز بر قلب یا رگ‌ها به کار می‌رود. این بیماری به دلیل تشکیل پلاک‌های چربی در داخل سرخرگ‌ها و در نتیجه موجب ضخیم شدن و سفت شدن دیواره این عروق شده و از رسیدن خون کافی به اندام‌ها و بافت‌های بدن از طریق سرخرگ‌ها جلوگیری می‌کند. اخیراً استرس اکسیداتیو به عنوان یکی از عوامل اصلی بیماری‌های قلبی عروقی مطرح شده است که می‌تواند به خاطر رژیم غذایی ناسالم، بی‌حرکی، اضافه وزن، مصرف دخانیات، زیاده‌روی در مصرف الکل یا کافئین، سوء مصرف مواد مخدر، فشار روحی و روانی و یا برخی از داروها و مواد شیمیایی ایجاد شود (۱). افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد و کاهش آنتی‌اکسیدان‌های موجود در میوکارد قلب و به طور کلی از بین رفتن تعادل بین اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها اصلی‌ترین عامل آسیب قلب به وسیله‌ی تعدادی از این عوامل می‌باشد (۲ و ۳).

تتراکلریدکربن ( $CCl_4$ ) یکی از قدیمی‌ترین و پراستفاده‌ترین ماده‌ی سمی جهت ایجاد آسیب‌های بافتی در حیوانات آزمایشگاهی می‌باشد. متابولیسم تتراکلریدکربن با تشکیل رادیکال آزاد آغاز شده (۴ و ۵)، سپس از طریق پراکسیداسیون لیپیدی و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) موجب آسیب غشای سلول و در نتیجه مرگ سلول می‌گردد. (۶ و ۷). این امر موجب آسیب یا نکروز بسیاری از بافت‌ها از جمله کبد، کلیه، ریه، بیضه، مغز و خون و همچنین بافت قلب می‌شود (۸).

گیاه بابونه‌ی گاوی یکی از گیاهان بومی اروپا و آسیا است ولی کشت آن در سراسر جهان گسترش یافته است. در ایران نیز در برخی مناطق از جمله در منطقه‌ی آذربایجان، ارسباران، گیلان و مازندران به شکل خودرو می‌روید. در

گذشته از این گیاه برای درمان آرتريت، آسم، یبوست، درد گوش، سردرد، التهاب پوست، تب، دفع حشرات، التهاب، اختلالات قاعدگی، پسوریازیس، اسپاسم، درد معده تورم، وزوز گوش، سرگیجه و دندان درد استفاده می‌شد. همچنین از این گیاه جهت سقط جنین، درمان درد کلیه، کولیک و کمک به هضم استفاده می‌شد. در طب سنتی از این گیاه به عنوان تب‌بر استفاده می‌کردند به همین خاطر این گیاه را Feverfew نیز می‌نامند (۹ و ۱۰). بیش از ۳۰ نوع سزکویی‌ترین لاکتون در گیاه بابونه‌ی گاوی شناسایی شده است. مهمترین ماده موثره‌ی این گیاه ترکیبی به نام پارتنولید است که اثرات بیولوژیک زیادی دارد (۱۱). پارتنولید پاسخ اسپاسموژنیک به واسطه‌ی سروتونین را مهار می‌کند. بعلاوه، این ترکیب می‌تواند به شکل غیررقابتی با داروهای سروتونرژیک ایجاد کننده‌ی انقباض مثل (فن فلورامین و دکستروآمفتامین) اثر آنتاگونیستی داشته باشد (۱۱). عصاره گیاه بابونه گاوی می‌تواند با مهار کانال‌های پتاسیمی مانع از اسپاسم آئورت قلبی گردد (۱۲). همچنین می‌تواند آزاد شدن سروتونین (5HT) را از طریق خنثی کردن گروه سولفیدریل در داخل و خارج سلول مهار کند (۱۱). عصاره‌ی گیاه بابونه حاوی سزکویی‌ترینی به نام آلفا متیلن بوتیرولاکتون می‌باشد که می‌تواند به این گروه‌های سولفیدریل چسبیده و آن را مهار نماید (۱۳). علاوه بر آن، عصاره این گیاه می‌تواند آزاد شدن هیستامین را از ماست-سل‌ها در پریئونال موش صحرایی مهار کند. این مکانیسم ممکن است به ورود کلسیم به داخل ماست‌سل‌ها مرتبط باشد (۱۱). با توجه به اثرات این گیاه بر روی قلب و فاکتورهای مرتبط با قلب، هدف از این مطالعه بررسی تأثیر محافظتی و آنتی‌اکسیدانی گیاه بابونه گاوی بر روی آسیب قلبی ایجاد شده به وسیله‌ی تتراکلریدکربن در موش صحرایی می‌باشد.

## روش بررسی

در این مطالعه تجربی، آزمایشات بر روی سرم و همچنین

بافت قلب هموژنیزه شده موش‌های صحرایی انجام گرفت.

طرح مطالعه :

تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار، با سن ۴ هفته از دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه تهران خریداری شد و جهت تطبیق با محیط و شرایط جدید به مدت دو هفته بدون هیچ مداخله‌ی تحقیقاتی نگهداری گردید تا وزن آنها به ۲۰۰-۱۸۰ گرم برسد. شرایط نگهداری حیوانات شامل دمای حدود ۲۲ درجه سانتیگراد، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و در بستری از پوشال می‌باشد. این تحقیق از نظرعایت موازین اخلاقی، مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اردبیل بوده و دارای کد شناسایی IR.ARUMS.REC.1394.67 از مرکز ثبت کارآزمایی بالینی جمهوری اسلامی ایران می‌باشد.

جمع‌آوری گیاه:

نمونه‌های گیاهی از آذربایجان شرقی منطقه‌ی ارسباران، شهرستان خدافرین جمع‌آوری گردید. قسمت‌های هوایی گیاه در اواسط اردیبهشت‌ماه جمع‌آوری شده و پس از تأیید جنس و گونه‌ی گیاهی با استفاده از کلیدهای تشخیص معتبر توسط کارشناس هرباریوم در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی با کد هرباریومی ۲۴۱۱، برای استخراج عصاره آماده شد.

عصاره‌گیری از گیاه:

اندام‌های هوایی گیاه در سایه و در دمای محیط (۲۵-۲۰ درجه سانتیگراد) به طور کامل خشک شده، با استفاده از هاون چینی بودر گردید و در متانول ۷۰ درصد به مدت هفت روز خیسانده شد. سپس عصاره‌ی به دست آمده از صافی رد گردید. بعد توسط rotary evaporator تغلیظ شد. پس از تبخیر الکل، عصاره‌ی تغلیظ شده در مدت دو هفته در دستگاه Freeze dryer تحت شرایط Main drying و Final drying تبدیل به پودر شد.

گروه‌بندی حیوانات:

- گروه کنترل نرمال (NC): ۱۴ روز آب مقطر (به‌صورت خوراکی) دریافت کردند، در روز ۱۴ فقط ۱/۵ میلی‌لیتر به

ازای هر کیلوگرم وزن بدن، روغن زیتون به صورت داخل صفاقی (IP) تزریق شد.

- گروه آسیب (CC): ۱۴ روز آب مقطر (گاوژ) دریافت کردند، روز ۱۴ مقدار ۱/۵ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، مخلوط تتراکلریدکربن و روغن زیتون (1:1) (V/V) به صورت IP تزریق شد.

- گروه پیش‌درمان با دوز ۴۰ عصاره (TP<sub>40</sub>): ۴۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، از عصاره گیاه به مدت ۱۴ روز به‌صورت خوراکی دریافت کردند، روز ۱۴ مقدار ۱/۵ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن مخلوط تتراکلریدکربن و روغن زیتون (IP) تزریق گردید.

- گروه پیش‌درمان با دوز ۸۰ (TP<sub>80</sub>): ۸۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، از عصاره گیاه به مدت ۱۴ روز به‌صورت خوراکی دریافت کردند، روز ۱۴ مقدار ۱/۵ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن مخلوط تتراکلریدکربن و روغن زیتون (IP) تزریق گردید.

- گروه پیش‌درمان با دوز ۱۲۰ (TP<sub>120</sub>): ۱۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، از عصاره گیاه به مدت ۱۴ روز به‌صورت خوراکی دریافت کردند، روز ۱۴ مقدار ۱/۵ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن مخلوط تتراکلریدکربن و روغن زیتون (IP) تزریق گردید.

نحوه‌ی ایجاد آسیب قلبی:

برای ایجاد آسیب قلبی، تتراکلریدکربن در روغن زیتون با نسبت برابر (۵۰ درصد تتراکلریدکربن در ۵۰ درصد روغن زیتون) حل شده، از مخلوط حاصل ۱/۵ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن رت به شکل داخل صفاقی تزریق گردید (۱۴).

۴۸ ساعت پس از تزریق تتراکلریدکربن رت‌ها با تزریق ۲۰۰ میکرولیتر مخلوط کتامین-زایلانین بیهوش شده و خونگیری مستقیماً از قلب انجام شد. خون به مدت ۲۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه بدون حرکت باقی مانده سپس با استفاده از سانتریفیوژ (۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه) سرم آنها جدا گردید. سرم مربوط به هر نمونه در میکروتیوب-

فعالیت آریل استراز به وسیله‌ی ارزیابی میزان هیدرولیز فنیل استات اندازه‌گیری می‌شود. ۵۰ میکرولیتر از سرم موش با ۹

نتایج آنالیز آماری به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش شد. نرمال بودن توزیع متغیرها با آزمون

کولموگروف - اسمیرنف مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌ها با آزمون ANOVA (آنالیز واریانس) یک طرفه و با تست تعقیبی با سطح معنی‌داری کم (LSD) تحلیل شد. میزان معنی‌داری به صورت  $P < 0.05$  گزارش گردید. انجام تمام تست‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 20 انجام گرفت.

### یافته‌ها

تأثیر تراکلریدکربن و TPE بر روی کلسترول و آنزیم‌های CK-MB و LDH:

جدول ۱، نشان‌دهنده تأثیر عصاره‌ی بابونه‌ی گاوی بر روی سطح TC، HDL-C و LDL-C و فعالیت CK-MB و LDH در رت‌هایی است که با تراکلریدکربن دچار آسیب شده‌اند. رت‌های آسیب‌دیده با تراکلریدکربن (گروه CC) افزایش معنی‌داری را در سطوح TC، LDL-C، CK-MB و LDH و کاهش معنی‌دار HDL-C در مقایسه با گروه کنترل (گروه NC) نشان دادند. پیش‌درمان با TPE به مدت ۱۴ روز در دوزهای ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ سبب کاهش میزان TC، LDL-C، CK-MB و LDH و همچنین موجب افزایش معنی‌دار در سطح HDL-C به شکل وابسته به دوز نسبت به گروه CC گردید. تأثیر تراکلریدکربن و TPE بر روی میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) قلب:

تأثیر عصاره‌ی بابونه‌ی گاوی بر روی فعالیت آنزیم SOD قلب در رت‌هایی که با تراکلریدکربن دچار آسیب شده‌اند در نمودار ۱ نشان داده شده است. رت‌هایی که فقط تراکلریدکربن دریافت کرده بودند کاهش معنی‌داری را در میزان فعالیت آنزیم SOD در مقایسه با گروه کنترل (NC) نشان دادند ( $p < 0.001$ ). پیش‌درمان با TPE به مدت ۱۴ روز در دوزهای ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم گردید ( $p < 0.05$ ).

تأثیر تراکلریدکربن و TPE بر روی میزان فعالیت آنزیم گلوکاتیون پراکسیداز (GPx) قلب:

تأثیر عصاره‌ی بابونه‌ی گاوی بر روی فعالیت آنزیم GPx قلب در رت‌هایی که با تراکلریدکربن دچار آسیب شده‌اند در نمودار ۲ آمده است. رت‌هایی که فقط تراکلریدکربن دریافت کرده بودند کاهش معنی‌داری را در میزان فعالیت آنزیم GPx در مقایسه با گروه کنترل (NC) نشان دادند. پیش‌درمان با TPE به مدت ۱۴ روز در دوزهای ۸۰ و ۱۲۰ باعث افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم شد ( $p < 0.05$ ).

تأثیر تراکلریدکربن و TPE بر روی میزان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) قلب:

تأثیر عصاره‌ی بابونه‌ی گاوی بر روی میزان پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) قلب در رت‌هایی که با تراکلریدکربن دچار آسیب شده‌اند در نمودار ۳ نشان داده شده است. رت‌هایی که فقط تراکلریدکربن دریافت کرده بودند افزایش معنی‌داری را در میزان MDA در مقایسه با گروه کنترل (NC) نشان دادند ( $p < 0.001$ ). پیش‌درمان با TPE به مدت ۱۴ روز در دوزهای ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب کاهش معنی‌دار در سطوح MDA شد ( $p < 0.001$ ).

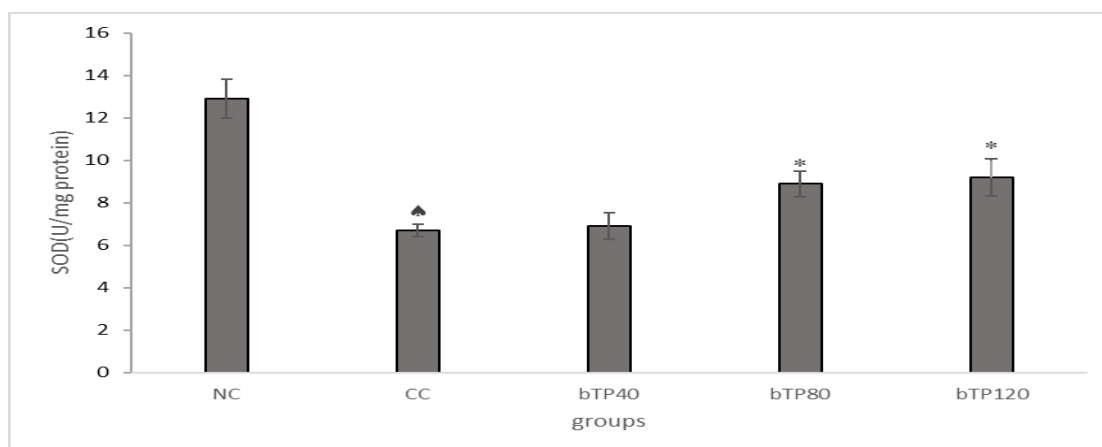
تأثیر تراکلریدکربن و TPE بر روی میزان فعالیت آنزیم آریل استراز (ARE) سرمی:

تأثیر عصاره‌ی بابونه‌ی گاوی بر روی میزان فعالیت آنزیم آریل استراز در رت‌هایی که با تراکلریدکربن دچار آسیب شده‌اند در نمودار ۴ آمده است. رت‌هایی که فقط تراکلریدکربن دریافت کرده بودند کاهش معنی‌دار در میزان ARE در مقایسه با گروه کنترل (NC) نشان دادند. پیش‌درمان با TPE به مدت ۱۴ روز در دوز ۱۲۰ میلی‌گرم باعث افزایش قابل ملاحظه‌ای در میزان فعالیت آنزیم آریل-استراز شد ( $p < 0.01$ ).

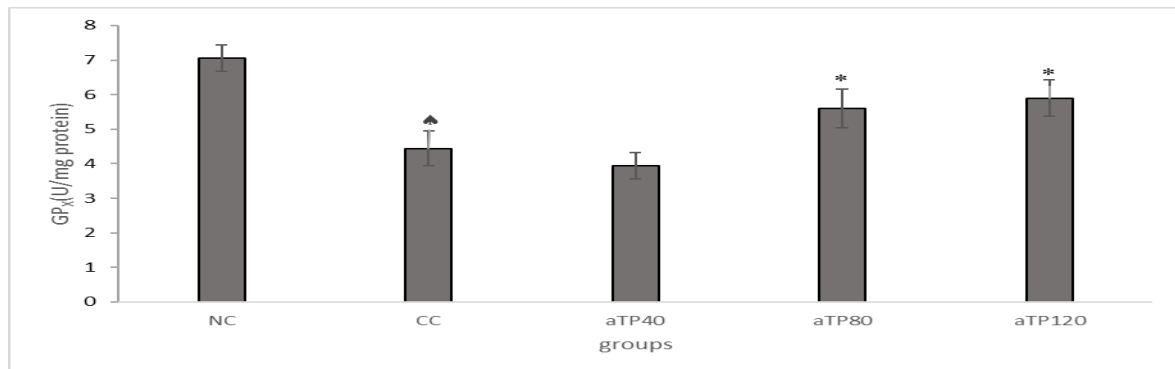
جدول ۱: مقایسه‌ی فعالیت آنزیم‌های قلبی و پروفایل لیپیدی سرم بین گروه‌های مورد مطالعه

متغیرها گروه‌ها	CK-MB (U/L)	LDH (U/L)	TC (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	LDL/HDL
NC	۵۶۴/۸۳ ±۲۹/۴۳	۸۲۰ ±۷۱/۲۷	۵۴/۳۳ ±۴/۴۱	۳۷/۸۳ ± ۱/۷۲	۴/۸ ±۳/۰۸	۰/۱۳
CC	۹۲۸/۵۷ ±۷۱/۷۴	۱۰۳۱/۴۲ ±۸۶/۶۸	۸۰/۲۸ ±۴/۳۴	۱۸/۱۴ ± ۱/۴	۴۴/۰۲ ±۳/۸۱	۲/۴۳
TP40	۸۹۸ ±۹۴/۵۳	۱۰۱۵ ±۸۹/۸۳	۷۸/۳۳ ±۶/۸۳	۲۰/۶۳ ± ۱/۴	۴۰/۳۶ ±۷/۰۵	۱/۹۶
TP80	۸۶۱/۶۶ ±۵۳/۴۴	۹۸۰ ±۲۲/۸	۷۳/۵ ±۳/۵۶	۲۲/۴۸ ± ۰/۷۵	۳۴/۶۱ ±۳/۶۶	۱/۵۴
TP120	۸۳۸/۳۳ ±۴۷/۹۲	۹۵۵ ±۴۸/۴۷	۷۱/۵ ±۳/۱۴	۲۴/۲۳ ± ۱/۳۷	۳۱/۶۳ ±۳/۲۸	۱/۳۰

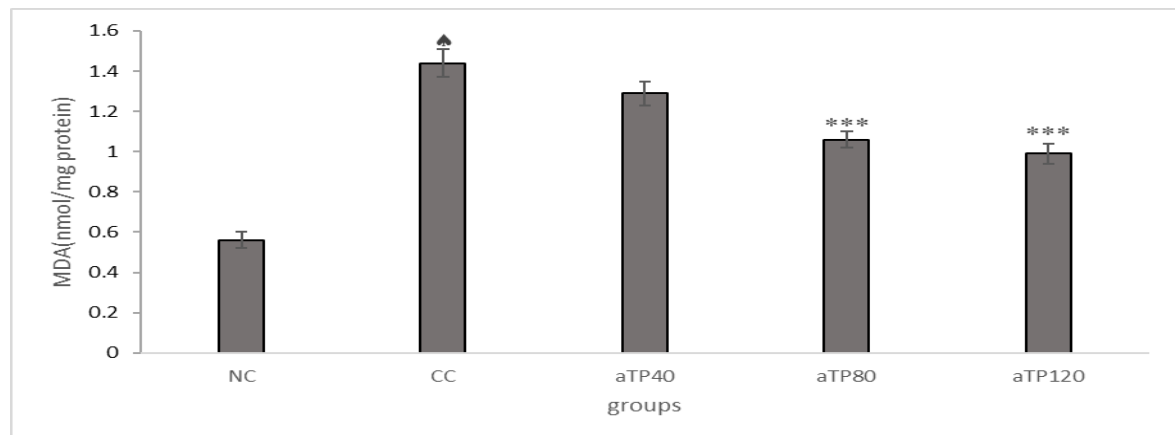
اعداد به صورت میانگین ± انحراف معیار (n=6) گزارش شده است. ♣ نشان‌دهنده‌ی معنادار بودن ( $p < 0.001$ ) نسبت به گروه کنترل نرمال. \* نشان-  
دهنده‌ی معنادار بودن ( $p < 0.05$ ) نسبت به گروه کنترل آسیب. \*\*\* نشان‌دهنده‌ی معنادار بودن ( $p < 0.001$ ) نسبت به گروه کنترل آسیب می‌باشد.



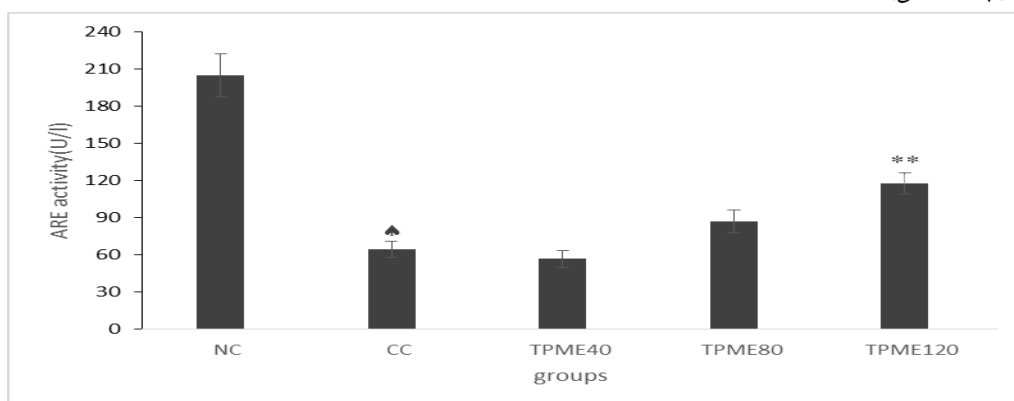
نمودار ۱: تأثیر تراکریلیدکربن و TPE بر روی میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) قلب. اعداد به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است (n=6). ♣ نشان‌دهنده‌ی معنادار بودن ( $p < 0.001$ ) نسبت به گروه کنترل نرمال (NC). \* نشان‌دهنده‌ی معنادار بودن ( $p < 0.05$ ) نسبت به گروه آسیب (CC) می‌باشد.



نمودار ۲: تأثیر تراکلریدکربن و TPE بر روی میزان فعالیت آنزیم گلوکوتاتین پراکسیداز (GPx). اعداد به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش شده است (n=6).  $\blacktriangle$  نشان‌دهنده معنادر بودن ( $p < 0.001$ ) نسبت به گروه کنترل نرمال (NC). \* نشان‌دهنده معنادر بودن ( $p < 0.05$ ) نسبت به گروه آسیب (CC) می‌باشد.



نمودار ۳: تأثیر تراکلریدکربن و TPE بر روی میزان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی (MDA). اعداد به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش شده است (n=6).  $\blacktriangle$  نشان‌دهنده معنادر بودن ( $p < 0.001$ ) نسبت به گروه کنترل نرمال (NC). \*\*\* نشان‌دهنده معنادر بودن ( $p < 0.001$ ) نسبت به گروه کنترل آسیب (CC) می‌باشد.



نمودار ۴: تأثیر تراکلریدکربن و TPE بر روی میزان فعالیت آنزیم آریل استراز (ARE). اعداد به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش شده است (n=6).  $\blacktriangle$  نشان‌دهنده معنادر بودن ( $p < 0.001$ ) نسبت به گروه کنترل نرمال (NC). \*\* نشان‌دهنده معنادر بودن ( $p < 0.01$ ) نسبت به گروه کنترل آسیب (CC) می‌باشد.



## بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تزریق تراکلرید کربن سبب ایجاد استرس اکسیداتیو در بافت قلب می شود که تشخیص این آسیب به وسیله ی افزایش فعالیت آنزیم های LDH، CK-MB، TC و LDL-C و کاهش فعالیت ARE و مقدار HDL-C در سرم و همچنین کاهش فعالیت آنزیم های SOD و GPx و افزایش میزان MDA در بافت قلب تأیید گردید. تزریق عصاره ی گیاه بابونه گاوی در دوزهای مختلف با اصلاح کردن فاکتورهای تغییر یافته، سبب کاهش اثرات مخرب تراکلرید کربن شد.

امروزه آنزیم CK-MB معتبرترین مارکر آسیب میوکارد در کنار تروپونین های قلبی است و در مواردی که به میوسیت قلبی آسیب می رسد این آنزیم در سرم افزایش می یابد. همچنین این آنزیم به همراه LDH در موارد دیستروفی عضلانی نیز افزایش می یابد (۸). بنابراین یکی از نشانه های آسیب به قلب افزایش سطوح این آنزیم ها در سرم می باشد (۶). رادیکال های آزاد تولید شده به وسیله ی تراکلرید کربن می تواند با پیوندهای دوگانه ی غشای لیپیدی ارتباط برقرار کرده و به غشای سلولی آسیب بزند. آسیب به غشای سلول سبب نفوذ و نشت آنزیم های CK-MB و LDH به درون جریان خون می شود. یافته های Sahreen و همکاران نشان داد که ترکیباتی از جمله تانین، ساپونین و کامفرول دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند و می توانند جلوی اثرات آسیب زایی گونه های فعال اکسیژن را بگیرند (۲۰). پایداری نسبی فعالیت آنزیم های CK-MB و LDH در گروه های پیش درمان با TPE ممکن است به خاطر داشتن ترکیبات آنتی اکسیدان عصاره باشد که از طریق جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی و پایدار ساختن غشای سلول، جلوی نشت این آنزیم ها و در نتیجه افزایش فعالیت سرمی آن را می گیرند.

تزریق داخل صفاقی تراکلرید کربن سبب تولید رادیکالهای فعال از جمله تری کلرومتیل و پراکسی تری کلرومتیل می شود که در طی واکنش های آبشاری می توانند با بیومولکول های

سلول و غشای سلول پیوند برقرار کرده و غشای سلول را از بین ببرند (۷). تخریب غشای سلول قلبی می تواند سبب ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش میزان MDA گردد. پراکسیداسیون لیپیدی نشان دهنده ی عدم تعادل بین میزان رادیکال آزاد و آنتی اکسیدان های بدن می باشد. در این مطالعه تزریق تراکلرید کربن مطابق با بررسی هایی که Eshagi و همکارانش بر روی بافت قلب انجام داده بودند، سبب افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدی و MDA در هموژنات قلب شد (۶). نتایج حاصل از اندازه گیری MDA در این مطالعه نشان داد که پیش درمان با TPE میزان پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش می دهد. نتایج بررسی های Eshagi و همکارانش نشان داد که ترکیباتی مثل مواد پلی فنولی و فلاونوئیدها می توانند جلوی پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب به قلب را بگیرند. با توجه به اینکه گیاه بابونه گاوی نیز دارای این ترکیبات و ترکیبات آنتی اکسیدان دیگر مثل فلاونول ها، اپیزین و لوتئولین می باشد (۲۱) لذا، به نظر می رسد که علت کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی در گروه های درمان شده با عصاره ی بابونه ی گاوی وجود این ترکیبات در عصاره ی بابونه ی گاوی باشد.

تأثیر TPE در پیشگیری از آسیب های اکسیداتیو را می توان با اندازه گیری آنزیم های آنتی اکسیدانی SOD و GPx و همچنین آریل استراز بیشتر مورد بررسی قرار داد. SOD یک آنزیم دفاعی است که رادیکال سوپراکسید را به H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> تبدیل می کند. GPx نقش حیاتی در حفظ تعادل حالت احیایی جانوران تحت شرایط استرس اکسیداتیو حاد داشته و آنها را در مقابل آسیب شیمیایی به پروتئین ها و لیپیدها حفظ می کند. این آنزیم ها با مشارکت یکدیگر می توانند جلوی آسیب به وسیله ی رادیکال های آزاد را بگیرند (۲۲). در این مطالعه تزریق تراکلرید کربن سبب کاهش میزان SOD و GPx شد. آریل استراز آنزیمی وابسته به HDL است بنابراین کاهش فعالیت آنزیم آریل استراز می تواند یا در نتیجه ی کاهش میزان HDL-C در گروه های آسیب دیده با تراکلرید کربن و یا ناشی از غیرفعال شدن

این تحقیق از نظر امکانات و شرایط انجام کار دچار محدودیت‌های انکارناپذیری بود که ممکن است قابلیت تعمیم نتایج آن را محدود سازد. عدم وجود گروه کنترل مثبت با یک داروی شناخته شده قلبی از موارد این محدودیت‌ها بود. مطالعات بیشتر در زمینه اثرات محافظتی TPE بر روی سایر فاکتورهای قلبی و همچنین فاکتورهای التهابی در زمینه آسیب‌های ناشی از سموم شیمیایی در قلب و بافت‌های دیگر بدن مورد نیاز است.

### نتیجه‌گیری

نتیجه مطالعات حاضر نشان داد که عصاره بابونه گاوی می‌تواند به عنوان ماده‌ای با اثرات مختلف آنتی‌اکسیدانی از اثرات مخرب تتراکلرید کربن و احتمالاً سایر سموم شیمیایی در بافت قلب پیشگیری کند.

### تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد در دانشگاه علوم پزشکی اردبیل بوده و نویسندگان مقاله از زحمات کارشناسان و اعضای هیئت علمی دانشکده پزشکی این دانشگاه تشکر می‌نمایند. همچنین نویسندگان مقاله از زحمات آقای دکتر حمیدرضا عکافی (دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان) که در شناسایی این گیاه کمک کردند قدردانی می‌نمایند.

آنزیم به علت آسیب‌های اکسیداتیو باشد. اثرات محافظت قلبی و درمانی TPE با استفاده از اندازه‌گیری TC، HDL-C و LDL-C به عنوان پارامترهای دخیل در بیماری‌های قلبی عروقی بیشتر مورد بررسی قرار گرفت. کاهش سنتز پروتئین و اختلال در متابولیسم فسفولیپیدها ممکن است در سطوح غیر طبیعی لیپوپروتئین‌ها دخیل باشد. افزایش سطوح کلسترول ممکن است به خاطر افزایش استریفیکاسیون اسیدهای چرب، مهار بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب و کاهش دفع لیپیدهای سلولی باشد. تتراکلرید کربن انتقال استات به درون سلول‌های کبدی را تحریک کرده (احتمالاً از طریق افزایش دسترسی به استات) و سبب افزایش ساخت کلسترول می‌شود (۲۳). علاوه بر آن، یافته‌های سایر محققین نشان داد که سنتز آپولیپوپروتئین نیز توسط تتراکلرید کربن مهار می‌شود که این عمل سبب کاهش سنتز لیپوپروتئین‌ها می‌گردد (۲۴). در بین آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیبات فنلی، قوی‌ترین ترکیبات در مهار پراکسیداسیون لیپیدی هستند (۲۵). با توجه به اینکه TPE غنی از سزکوئی‌ترین‌های هیدروکسیل‌دار است پس احتمالاً می‌تواند جلوی اثرات مخرب ROS را گرفته و جلوی اکسیداسیون LDL-C و اکسیداسیون غشای سلول را بگیرد (۱۰). این عمل از یک طرف باعث می‌شود انتقال استات به داخل سلول کبدی کاهش یافته و در نتیجه سنتز کلسترول، اسیدهای چرب آزاد و تری‌گلیسرید کاهش یابد. از طرف دیگر با افزایش تولید HDL-C و کاهش تولید LDL-C دریافت کلسترول و تجزیه‌ی آن توسط کبد را آسان کرده تا به این طرق میزان LDL-C و کلسترول در خون کاهش یابد. یافته‌های سایر محققین نیز همسو با یافته‌های ما بود (۲۶ و ۲۵).

مقاومت گروه‌های تیمار شده با TPE در برابر خواص آسیب‌زایی تتراکلرید کربن می‌تواند به دلیل توانایی این گیاه در تحریک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان جهت مقابله با گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده به وسیله‌ی تتراکلرید کربن باشد (۲۷).

## Reference

1. Singh U, Jialal I. Oxidative stress and atherosclerosis. *Pathophysiology* 2006; 13: 129-42.
2. Iliskovic N, Singal PK. Lipid lowering: an important factor in preventing adriamycin-induced heart failure. *Am J Pathol* 1997; 150: 7-27.
3. Singal PK, Li T, Kumar D, Danelisen I, Iliskovic N. Adriamycin-induced heart failure: mechanisms and modulation. *Mol Cell Biochem* 2000; 207: 77-86.
4. Sahreen S, Khan MR, Khan RA, Alkreathy HM. Protective effects of Carissa opaca fruits against CCl<sub>4</sub>-induced oxidative kidney lipid peroxidation and trauma in rat. *Food Nutr Res* 2015; 59.
5. Cheng N, Ren N, Gao H, Lei X, Zheng J, Cao W. Antioxidant and hepatoprotective effects of Schisandra chinensis pollen extract on CCl<sub>4</sub>-induced acute liver damage in mice. *Food Chem Toxicol* 2013; 55: 234-40.
6. Eshaghi M, Zare S, Banihabib N, Nejati V, Farokhi F, Mikaili P. Cardioprotective effect of Cornus mas fruit extract against carbon tetrachloride induced-cardiotoxicity in albino rats. *J Basic Appl Sci Res* 2012; 2: 11106-14.
7. Aksoy L, Sözbilir NB. Effects of Matricaria chamomilla L. on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems, and key liver enzymes in CCl<sub>4</sub>-treated rats. *Toxicol Environ Chem* 2012; 94: 1780-8.
8. Sahreen S, Khan MR, Khan RA, Alkreathy HM. Cardioprotective role of leaves extracts of Carissa opaca against CCl<sub>4</sub> induced toxicity in rats. *BMC Res Notes* 2014; 7: 224.
9. Sharopov FS, Setzer WN, Isupov SJ, Wink M. Composition and bioactivity of the essential oil of Tanacetum parthenium from a wild population growing in Tajikistan. *Am J Essent Oils Nat Prod* 2015; 2: 32-4.
10. Mahmoodzadeh Y, Mazani M, Rezagholizadeh L, Abbaspour A, Zabihi E, Pourmohammad P. Effect of Tanacetum parthenium Extract on Total Antioxidant Capacity of Tissues Damaged by Carbon Tetrachloride in Rats. *J Ardabil Univ Med Sci* 2017; 16: 363-73. [In Persian]
11. Pareek A, Suthar M, Rathore GS, Bansal V. Feverfew (Tanacetum parthenium L.): A systematic review. *Pharmacogn Rev* 2011; 5: 103-10.
12. Barsby RW, Salan U, Knight DW, Hoult JR. Feverfew and vascular smooth muscle: extracts from fresh and dried plants show opposing pharmacological profiles, dependent upon sesquiterpene lactone content. *Planta Medica* 1993; 59: 20-5.
13. Heptinstall S, Groenewegen W, Spangenberg Pt, Lösche W. Inhibition of platelet behaviour by feverfew: a mechanism of action involving sulphydryl groups. *Folia Haematol Int Mag Klin Morphol Blutforsch* 1988; 115: 447-9.
14. Chikezie PC, Amadi kwa UA. Protective effect of Allium sativa extract against carbon tetrachloride- induced hepatic oxidative stress and hyperlipidemia in rats. *Afr J Biotechnol* 2014; 13: 1671-8.
15. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158-69.
16. Furlong CE, Richter RJ, Seidel SL, Motulsky AG. Role of genetic polymorphism of human plasma paraoxonase/arylesterase in hydrolysis of the insecticide metabolites chlorpyrifos oxon and paraoxon. *Am J Hum Genet* 1988; 43: 230-8.
17. Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 1978; 86: 271-8.
18. Abd El-mohsen Ali S, Hussein Abdelhafiz Abdelaziz D. The Protective Effect of Date

Seeds on Nephrotoxicity Induced by Carbon Tetrachloride in Rats. *Int J Pharm Sci Rev Res* 2014; 26: 62-8.

19. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72: 248-54.

20. Sahreen S, Khan MR, Khan RA. Hepatoprotective effects of methanol extract of *Carissa opaca* leaves on CCl<sub>4</sub>-induced damage in rat. *BMC Complement Altern Med* 2011; 11:48.

21. Williams CA, Harborne JB, Geiger H, Hoult JR. The flavonoids of *Tanacetum parthenium* and *T. vulgare* and their anti-inflammatory properties. *Phytochemistry* 1999; 51: 417-23.

22. Shankar NG, Manavalan R, Venkappayya D, Raj CD. Hepatoprotective and antioxidant effects of *Commiphora berryi* (Arn) Engl bark extract against CCl<sub>4</sub>-induced oxidative damage in rats. *Food Chem Toxicol* 2008; 46: 3182-5.

23. Marimuthu S, Adluri RS, Rajagopalan R, Menon VP. Protective role of ferulic acid on carbon tetrachloride-induced hyperlipidemia and histological alterations in experimental rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2013; 24: 59-66.

24. Kamalakkannan N, Rukkumani R, Viswanathan P, Rajasekharan KN, Menon VP. Effect of curcumin and its analogue on lipids in carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity: A comparative study. *Pharm Biol* 2005; 43: 460-6.

25. Mahmoodzadeh Y, Mazani M, Rezagholizadeh L. Hepatoprotective Effect of Methanolic *Tanacetum Parthenium* Extract on CCl<sub>4</sub>-Induced Liver Damage in Rats. *Toxicol Rep* 2017; 4: 455-62.

26. Nasir A, Abubakar MG, Shehu RA, Aliyu U, Toge BK. Hepatoprotective effect of the aqueous leaf extract of *Andrographis paniculata* Nees against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Nig J Basic Appl Sci* 2013; 21: 45-54.

27. Abirami A, Nagarani G, Siddhuraju P. Hepatoprotective effect of leaf extracts from *Citrus hystrix* and *C. maxima* against paracetamol induced liver injury in rats. *Food Science and Human Wellness* 2015; 4: 35-41.